BULLETIN
du MUSÉUM NATIONAL d'HISTOIRE NATURELLE

PUBLICATION BIMESTRIELLE

sciences physico-chimiques

19

N° 522 NOVEMBRE-DÉCEMBRE 1978

BULLETIN
du
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

57, rue Cuvier, 75005 Paris

Le *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, revue bimestrielle, paraît depuis 1895 et publie des travaux originaux relatifs aux diverses branches de la Science.

Les tomes 1 à 34 (1895-1928), constituant la 1re série, et les tomes 1 à 42 (1929-1970), constituant la 2e série, étaient formés de fascicules regroupant des articles divers.

De 1971 à 1977, le *Bulletin* 3e série est divisé en cinq sections (Zoologie — Botanique — Sciences de la Terre — Écologie générale — Sciences physico-chimiques) et les articles paraissent par fascicules séparés. A partir de 1978 les articles sont regroupés en fascicules bimestriels, par section.

S'adresser :

— pour les **échanges, abonnements et achats au numéro**, à la Bibliothèque centrale du Muséum national d'Histoire naturelle, Service des ventes, 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris.

— pour tout ce qui concerne la **rédaction**, au Secrétariat du *Bulletin*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris.

Abonnements pour l'année 1978

Abonnement général : France, 530 F ; Étranger, 580 F.
Zoologie : France, 410 F ; Étranger, 450 F.
Sciences de la Terre : France, 110 F ; Étranger, 120 F.
Botanique : France, 80 F ; Étranger, 90 F.
Écologie générale : France, 70 F ; Étranger, 80 F.
Sciences physico-chimiques : France, 25 F ; Étranger, 30 F.

International Standard Serial Number (ISSN) : 0027-4070.

BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e séric, no 522, novembre-décembre 1978, Sciences physico-chimiques 19

SOMMAIRE

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3[e] sér., n° 522, nov.-déc. 1978,
Sciences physico-chimiques 19 : 3-11.

Étude de la composition en coumarines de quelques *Heracleum* (Pastinaceae ; Umbelliferae) au cours de leur développement

par Marie-Claire Carbonnier-Jarreau, Jacques Carbonnier,
Michel Farille et Darius Molho *

Key Words : Ontogeny, development, furanocoumarins, dihydrofuranocoumarins, qualitative and quantitative changes, *Heracleum lehmannianum*, *H. wallichii*, *Tetrataenium sprengelianum*.

Résumé. — L'analyse des coumarines de la racine au cours du développement d'*H. lehmannianum* met en évidence que leur biosynthèse démarre dès la germination. Parmi les furocoumarines, les dérivés linéaires apparaissent avant les angulaires. La jeune plantule accumule des dihydrofurocoumarines, qui disparaissent dès le stade « 5[e] feuille ». Les quantités totales de coumarines augmentent fortement durant la croissance de la hampe florale et sont maximales pendant la floraison. La comparaison des compositions coumariniques des racines d'*Heracleum* et de *Tetrataenium* au stade cotylédonaire et au cours de la fructification montre que la plantule de l'espèce la plus évoluée possède un métabolisme similaire à celui de l'adulte le plus archaïque.

Abstract. — An investigation of the coumarin constituents of the roots of *H. lehmannianum* during development, demonstrated that the biosynthesis of these compounds took place as soon as germination had begun. Linear furanocoumarins appeared before the angular ones. Young plantlets do accumulate dihydrofuranocoumarins, which disappear at the stage « 5th leaf ». A strong increase in the bulk coumarinic content is noticed during the growth of the spike ; a maximum is reached during flowering. A comparison of coumarin contents of the roots of *Heracleum* and *Tetrataenium*, at the cotyledonary stage, and during fructification, evidenced that the metabolism found in the plantlet of the most advanced species is similar to that operating in the most archaic mature plant.

De nombreuses Ombellifères renferment des coumarines (**1**, **2**, **3**, **4**). Leur absence dans l'embryon (**5**) démontre que ces constituants sont synthétisés au cours du développement. Nous nous proposons d'étudier, en fonction de l'âge physiologique de la plante, l'ordre d'apparition de ces dérivés et leur éventuelle variation dans la racine.

H. lehmannianum Bge, *H. mantegazzianum* Somm. & Lev., *H. sphondylium* L., *H. wallichii* DC. et *Tetrataenium sprengelianum* [1] (Wight & Arn.) Manden. ont servi de matériel à ce travail.

* M.-C. Carbonnier-Jarreau, *Laboratoire de Palynologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 61, rue Buffon, 75005 Paris.*
J. Carbonnier et D. Molho, *Laboratoire de Chimie appliquée aux corps organisés, Muséum national d'Histoire naturelle, 63, rue Buffon, 75005 Paris.*
M. Farille, *Laboratoire de La Jaysinia, 74340 Samoëns.*

1. = *Heracleum sprengelianum* Wight & Arn.

Tableau I. — Composition en coumarines des racines d'*Heracleum lehmannianum* Bge, au cours du développement de la plantule. (Plantules cultivées en serre jusqu'au stade 5e feuille ; l'espèce est pluriannuelle.) (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau VII.)

	Stades		Cotylédon	1re feuille	2e feuille	5e feuille	1 an	Adulte	Série
Dihydrofurocoumarines	Ester de marmésine	*(4)*	+ +	+ +	+	+	t	0	Esters des Précurseurs
	Columbianadine	*(5)*	+ +	+ +	+	+	t	0	
	Marmésine	*(2)*	+	+	+	t	t	0	Précurseurs des furocoumarines
	Columbianétine	*(3)*	+	+	+	t	t	t	
Furocoumarines	Psoralène	*(6)*	t	+	+	+	+	+ +	Linéaires
	Bergaptène	*(7)*	+	+	+	+	+ +	+ + +	
	Isopimpinelline	*(9)*	t	+	+	+	+ +	+ + + +	
	Angélicine	*(12)*	0	+	+	+	+ +	+ +	Angulaires
	Sphondine	*(14)*	0	+	+	+	+ +	+ + + +	
	Isobergaptène	*(13)*	0	0	0	t	+	+ +	
	Pimpinelline	*(15)*	0	0	0	t	+	+ +	

Légende : Expression semi-quantitative relative, appréciée en chromatographie sur couche mince en fonction du diamètre des taches, avec une prise d'essai standardisée : poids de matériel sec, volume de solvant reprenant l'extrait, capillaires calibrés pour les dépôts. t = traces.

Résultats et discussion

Les coumarines de la racine d'*Heracleum lehmannianum* ont été recherchées à différents stades de développement ; les résultats, donnés dans le tableau I, permettent de faire trois observations :

1 — Au stade cotylédonaire, on remarque que la biosynthèse des furocoumarines angulaires n'est pas encore engagée : absence d'angélicine, de sphondine, d'isobergaptène et de pimpinelline ; par contre, le psoralène, l'isopimpinelline et le bergaptène sont déjà présents dans les stades les plus juvéniles.

2 — Globalement, on assiste, au cours du développement, à la disparition des dihydrofurocoumarines, présentes dès les premiers stades, et à l'enrichissement progressif en furocoumarines, ceci aussi bien qualitativement que quantitativement.

3 — Chez *H. lehmannianum*, la plante adulte (floraison) ne renferme plus d'esters de dihydrofurocoumarines.

Un certain nombre de conclusions découlent de ces résultats.

Il convient de signaler, d'une part, que la biosynthèse des furocoumarines linéaires précède celle des angulaires et, d'autre part, que la biosynthèse coumarinique se déclenche très tôt puisque neuf de ces composés ont pu être caractérisés dès le stade « 1re feuille ».

Il y a lieu de considérer également les dihydrofurocoumarines (marmésine et columbianétine), précurseurs obligatoires des furocoumarines (**6**). On relèvera que si, chez l'adulte, leur présence se limite à quelques traces tout juste révélables en chromatographie sur couche mince, elles sont nettement plus abondantes chez la jeune plantule. Quant à leurs esters, absents chez l'adulte, ils constituent les produits majoritaires de la jeune plantule. On assiste ainsi, jusqu'au stade « 5e feuille », à un « freinage » global du métabolisme furocoumarinique qui a pour conséquence une accumulation des précurseurs et de leurs esters, formes de blocage (ou de stockage). Il semble résulter de ce qui précède que l'ordre d'apparition des coumarines de la racine reflète la succession des étapes biogénétiques des furocoumarines rencontrées chez l'adulte.

Cette modification du métabolisme coumarinique au cours de la vie de la plantule paraît commune au genre *Heracleum* sensu stricto. En effet des résultats similaires ont été obtenus avec *H. sphondylium* et *H. mantegazzianum* (tabl. II).

Enfin, on notera que ce phénomène n'est pas sous l'influence de conditions climatiques, car si les plantules d'*H. sphondylium* et d'*H. mantegazzianum* proviennent de semis en pleine terre (semis en octobre 1971, levée en mai 1972, dans les Alpes à 700 m d'altitude : Laboratoire de La Jaysinia, Samoëns), celles d'*H. lehmannianum* résultent de cultures en serre, sous conditions invariantes : 12 h d'éclairage par jour, 22°C de température de jour, 18°C de nuit, 60 % d'humidité relative.

Si, du point de vue qualificatif, la composition en furocoumarines est définitive chez *Heracleum lehmannianum* dès le stade « 5e feuille », les quantités de l'ensemble de ces composés continuent de varier au cours du développement de la plante (cf. tabl. III).

Durant toute la période végétative on observe une montée lente des quantités totales de la racine, puis ce niveau s'élève brusquement au moment de la croissance de la hampe florale, passe par un maximum pendant la floraison, pour redécroître enfin au cours de

Tableau II. — Composition en coumarines des racines d'*Heracleum sphondylium* (A) et d'*H. mantegazzianum* (B). (Plantules cultivées à l'extérieur en mai 1972, à Samoëns, 700 m d'altitude.) (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau VII.) t = traces.

Stade		Cotylédonaire		1re feuille		2e feuille		Adulte	
Espèces		A	B	A	B	A	B	A	B
Ester de marmésine	(*4*)	+	+	+	+	t	+	0	0
Columbianadine	(*5*)	+	+	+	+	t	+	0	0
Marmésine	(*2*)	+	+	+	+	+	+	t	+
Columbianétine	(*3*)	+	+	+	+	+	+	0	+
Psoralène	(*6*)	0	t	+	+	+	+	0	+
Bergaptène	(*7*)	+	+	+	+	+	+	+	+
Xanthotoxine	(*8*)	0	0	0	+	+	+	+	+
Isopimpinelline	(*9*)	t	t	+	+	+	+	+	+
Angélicine	(*12*)	0	0	+	+	+	+	+	+
Sphondine	(*14*)	0	0	+	+	+	+	+	+
Isobergaptène	(*13*)	0	0	0	0	0	0	+	+
Pimpinelline	(*15*)	0	0	0	0	0	0	+	+

Tableau III. — Coumarines totales extractibles à l'éther de pétrole de la racine d'*Heracleum lehmannianum*.

Date	juillet 1972	juillet 1973	avril 1974	juin 1974	juillet 1974	août 1974
Stade	végétatif	végétatif	végétatif	croissance	floraison hampe florale	fruit mûr
Age (mois)	12	24	33	35	36	37
Quantités de coumarines (en % de racine sèche)	1	1,1	1,1	1,9	3,4	2,45

Légende : Les variations observées ne sont pas attribuables à des facteurs saisonniers qui sont étudiés par ailleurs (**13**).

la fructification et du mûrissement des fruits. Ce phénomène se rapproche de celui observé avec les flavonoïdes des feuilles d'autres Ombellifères (**7, 8**).

L'importance relative des constituants les uns par rapport aux autres varie, elle aussi, avec l'âge physiologique de la plante. Ainsi, bien que les produits (*2*), (*3*), (*6*), (*7*), (*9*), (*12*),

Tableau IV. — Constituants coumariniques majoritaires de la racine d'*H. lehmannianum*. (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau VII.)

N°	Plante âgée de 6 mois : végétatif	Plante âgée d'un an : végétatif	Floraison	Fructification
7	Bergaptène	Bergaptène	Bergaptène	Bergaptène
9	Isopimpinelline	Isopimpinelline	Isopimpinelline	Isopimpinelline
14	Sphondine	Sphondine	Sphondine	Sphondine
12	Angélicine	Angélicine		
13	Isobergaptène			

Constituants de la racine au moment de la fructification : marmésine (*2*), columbianétine (*3*), psoralène (*6*), bergaptène (*7*), isopimpinelline (*9*), angélicine (*12*), sphondine (*14*), isobergaptène (*13*) et pimpinelline (*15*).

Tableau V. — Constituants coumariniques majoritaires de la racine d'*H. wallichii*. (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau VII.)

N°	Plante âgée de 6 mois : végétatif	Plante âgée d'un an : végétatif	Fructification
2	Marmésine	Marmésine	
5	Columbianadine	Columbianadine	
9			Isopimpinelline
10			Phelloptérine

Constituants de la racine au moment de la fructification : marmésine (*2*), ester de marmésine (*4*), columbianétine (*3*), columbianadine (*5*), bergaptène (*7*), xanthotoxine (*8*), isopimpinelline (*9*), impératorine (*11*), phelloptérine (*10*), isobergaptène (*13*) et sphondine (*14*).

(*13*), (*14*) et (*15*) soient toujours présents dans la racine d'*H. lehmannianum* dès le stade « 5e feuille », certaines substances prédominent (cf. tabl. IV). A l'âge de 6 mois la racine renferme des quantités à peu près équivalentes de bergaptène (*7*), d'isopimpinelline (*9*), d'angélicine (*12*), de sphondine (*14*) et d'isobergaptène (*13*), puis on assiste à une sélection des produits majoritaires, dont trois seulement (*7*), (*9*) et (*14*) se détachent quantitativement d'une manière nette des neuf constituants coumariniques de la racine au moment de la fructification. On remarque que ces produits majoritaires représentent aussi bien les furocoumarines linéaires (*7*) et (*9*) que les angulaires (*14*).

Il n'en est pas de même pour un *Heracleum* indien : *H. wallichii* (tabl. V), chez qui

Tableau VI. — Composition en coumarines des racines d'*Heracleum lehmannianum* et de *Tetrataenium sprengelianum* aux deux stades extrêmes de leur développement. (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau VII.)

	H. lehmannianum		*T. sprengelianum*	
Stade cotylédonaire	Ester de marmésine	(*4*)	Ester de marmésine	(*4*)
	Columbianadine	(*5*)	Columbianadine	(*5*)
	Marmésine	(*2*)	Marmésine	(*2*)
	Columbianétine	(*3*)	Columbianétine	(*3*)
	Bergaptène	(*7*)		
Fructification	Psoralène	(*6*)	Ester de marmésine	(*4*)
	Bergaptène	(*7*)	Columbianadine	(*5*)
	Isopimpinelline	(*9*)	Marmésine	(*2*)
	Angélicine	(*12*)	Columbianétine	(*3*)
	Sphondine	(*14*)		
	Isobergaptène	(*13*)		
	Pimpinelline	(*15*)		

on observe une prédominance quantitative des furocoumarines linéaires : isopimpinelline (*9*) et phelloptérine (*10*). Bien qu'un dérivé angulaire (*14*) existe dans la racine, celui-ci demeure en quantités faibles.

Ceci est à rapprocher des remarques que nous avons déjà effectuées (**9**) au sujet des Pastinaceae d'origine indienne où le métabolisme furocoumarinique est toujours orienté préférentiellement vers la série linéaire. Ce phénomène atteint son expression maximum avec la disparition totale des furocoumarines angulaires que l'on observe chez *Tetrataenium sprengelianum*, provenant du sud de l'Inde, qui ne renferme qu'une seule furocoumarine, linéaire, et uniquement dans le fruit (*10*) (**10**).

Quand on compare (tabl. VI) la composition de la racine d'*Heracleum lehmannianum* avec celle de *Tetrataenium sprengelianum* aux deux stades extrêmes de développement (stade cotylédonaire et fructification) il est possible d'en déduire quelques conclusions :

— Au niveau taxonomique : La confrontation des résultats analytiques concernant les racines adultes montre des différences fondamentales ; cette donnée a constitué un argument en faveur de la séparation des deux genres (**9**).

— Au niveau outogénique : On observe, au cours du développement, une différence essentielle de comportement des deux espèces vis-à-vis du métabolisme coumarinique : chez *H. lehmannianum* on constate la disparition de certains composés (*2, 3, 4, 5*) et l'apparition de nouvelles coumarines (*6, 9, 12, 13, 14, 15*). Ce changement d'utilisation des voies biogénétiques est très clair dans la série angulaire, puisque la columbianétine, en tant que précurseur de cette série, est transformée en columbianadine par la jeune plantule, et, par l'adulte, en furocoumarines angulaires (angélicine, sphondine, isobergaptène et pimpinelline) (cf. tabl. VII).

TABLEAU VII. — Structures des coumarines citées.

	R_5	R_6
12 – ANGELICINE	H	H
13 – ISOBERGAPTENE	OCH_3	H
14 – SPHONDINE	H	OCH_3
15 – PIMPINELLINE	OCH_3	OCH_3

	R_5	R_8
6 – PSORALENE	H	H
7 – BERGAPTENE	OCH_3	H
8 – XANTHOTOXINE	H	OCH_3
9 – ISOPIMPINELLINE	OCH_3	OCH_3
10 – PHELLOPTERINE	OCH_3	$OCH_2\text{-}CH{:}C\text{-}(CH_3)_2$
11 – IMPERATORINE	H	$OCH_2\text{-}CH{:}C\text{-}(CH_3)_2$

5 – COLUMBIANADINE

4 – ESTER DE MARMESINE

$CO-(C_4H_7)$

3 – COLUMBIANETINE

2 – MARMESINE

1 – OMBELLIFERONE

Ce renversement de métabolisme ne se produit pas chez *Tetrataenium sprengelianum* où la composition de la racine de l'adulte est qualitativement la même que celle des formes juvéniles.

— Au niveau phylogénique : La composition de la racine de la plantule d'*H. lehmannianum* et celle de l'adulte de *Tetrataenium sprengelianum* montrent une grande ressemblance. Or, il a été avancé (**11**), sur des critères botaniques, que les *Tetrataenium* sont plus archaïques que les *Heracleum*. Ainsi cette confrontation met en évidence que le métabolisme coumarinique d'une plantule d'*Heracleum* est très semblable à celui d'un adulte d'un genre très proche, mais plus primitif. Dans ce cas, et vis-à-vis de ce type de constituants, il semble donc bien que l'ontogénie calque la phylogénie du genre.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Matériel

Heracleum lehmannianum Bge. — Cultivé dans le jardin du Laboratoire de Chimie du Muséum national d'Histoire naturelle à Paris, à partir de fruits obtenus auprès du jardin botanique de Coimbra (Portugal). Détermination I.-P. Mandenova. Herbier de référence : Laboratoire de Chimie, Muséum Paris : JC. 70-49.

Heracleum mantegazzianum Somm. & Lev. — Cultivé dans le jardin botanique de La Jaysinia, Samoëns, Haute-Savoie. Herbier de référence : Laboratoire de Chimie, Muséum Paris : JC. 74-4.

Heracleum sphondylium L. subsp. *sphondylium*. — Cultivé dans le jardin botanique de La Jaysinia, Samoëns, Haute-Savoie, à partir de fruits récoltés aux Allamands, Samoëns, Haute-Savoie. Herbier de référence : Laboratoire de Chimie, Muséum Paris : JC. 68-5.

Heracleum wallichii DC. — Cultivé dans le jardin du Laboratoire de Chimie du Muséum national d'Histoire naturelle à Paris, à partir de fruits récoltés au Népal (Région N-O), environs de Nar à Kyang : site abandonné dans la Naur Khola (84°15′ Long. E, 28°44′ Lat. N). 3 800 m d'altitude, le 10.X.1972. Coll. C. Jest. Détermination I.-P. Mandenova. Herbier de référence : Laboratoire de Chimie, Muséum Paris : JC. 73-57.

Tetrataenium sprengelianum (Wight & Arn.) Manden. — Cultivé dans le jardin du Laboratoire de Chimie du Muséum national d'Histoire naturelle à Paris, à partir de fruits collectés en Inde du Sud, Palni Hills, bassin de Koniar, 2 200 m d'altitude. Coll. et détermination F. Blasco (29.XI.1973). Recomb. I.-P. Mandenova. Herbier Blasco, n° 2685, Université Paul Sabatier, Toulouse.

Méthodes

Les méthodes d'analyse chromatographique d'identification des substances dont il est question dans cet article, ainsi que leurs caractéristiques physiques sont décrites dans un article précédent (**12**).

Remerciements

Nous remercions MM. F. Blasco et C. Jest pour nous avoir collecté du matériel au cours de leurs missions aux Indes et au Népal, ainsi que Mme I. P. Mandenova, qui a bien voulu vérifier certaines déterminations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Nielsen, B. E., 1970. — Coumarins of Umbelliferous Plants. The royal danish school of Pharmacy, Ed., Copenhagen : 188 p.
2. Pimenov, M. G., 1971 — Inventaire des plantes sources de substances coumariniques (en russe). Akad. Nauk S.S.S.R. « Nauka » Ed., Leningrad : 200 p.
3. Gonzalez, A. G., R. J. Cardona, H. Lopez, J. M. Medina & F. Rodriguez-Luis, 1976. — *Rev. real Acad. Cien.*, **70** : 109-206.
4. Carbonnier, J., O. Fatianoff & D. Molho, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères, Perpignan, 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 387-513, A. M. Cauwet-Marc & J. Carbonnier Éd. : 866 p.
5. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier, A.-M. Cauwet-Marc & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., nº 522, Sci. phys.-chim. 19 : 23-28.
6. Steck, W., M. El-Dakhakhny & S. A. Brown, 1969. — *Tetrahedron Lett.* : 4805-4808.
7. Kisselieva, A. V., & V. G. Minaeva, 1972. — *Fiziologiya Rast.*, **19** : 1252-1256.
8. Gorovoy, P. G., & P. K. Ulanova, 1974. — *Rast. Res. S.S.S.R.*, **10** : 244-246.
9. Mandenova, I. P., J. Carbonnier, M.-C. Carbonnier-Jarreau, A.-M. Cauwet-Marc, M.-T. Cerceau-Larrival, M. Guyot, D. Molho & J. P. Reduron, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères, Perpignan, 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 675-725, A. M. Cauwet-Marc & J. Carbonnier. Éd. : 866 p.
10. Molho, D., P. Jössang & J. Carbonnier, 1972. — *Bull. Soc. chim. Fr.* : 208-212.
11. Mandenova I. P., 1959. — Matériel pour la Systématique de la tribu des *Pastinaceae* K.-Pol *emend.* Manden. (*Umbelliferae — Apioideae*), Monogr. (en russe). *Trudy tbilis. bot. Inst.*, Acad. Sci. Georgie, Tbilissi, Ed., **20** : 57 p.
12. Carbonnier, J., & D. Molho, 1977. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., nº 484, Sci. phys.-chim., 12 : 1-17.
13. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., nº 522, Sci. phys.-chim. 19 : 13-16.

Manuscrit déposé le 12 juillet 1978.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., n° 522, nov.-déc. 1978,
Sciences physico-chimiques 19 : 13-16.

Variations saisonnières des quantités totales de coumarines de la racine d'*Heracleum lehmannianum* Bge (Umbelliferae)

par Marie-Claire Carbonnier-Jarreau, Jacques Carbonnier et Darius Molho *

Mots clés : *Heracleum lehmannianum*, *H. granatense*. Coumarines. Furocoumarines. Variations saisonnières. Phytoalexines. Allélopathisme.

Résumé. — Les quantités de coumarines renfermées dans la racine d'*H. lehmannianum* sont appréciées jusqu'à la fructification de la plante. On observe des maximums en décembre et des minimums en février, puis une importante augmentation du taux de coumarines au moment de la croissance de la hampe florale. La comparaison avec des individus cultivés en serre dans des conditions invariables montre que les cycles annuels sont sous la dépendance de facteurs climatiques, mais que la poussée observée peu avant la floraison est sous le contrôle de facteurs physiologiques. On discute des rôles que peuvent jouer les importantes quantités de coumarines accumulées dans la racine.

Abstract. — Coumarins are determinated in the roots of *H. lehmannianum* until fructification. A maximum amounts are found in december ; and minimum amounts in february. An important increase is noticed during the development of the spike. Comparison with green-house grown specimens shows that the annual cycle is climate dependent ; on the contrary, the increase observed shortly before flowering depends on physiological factors. The role of the important accumulation of coumarins in the roots is discussed.

Nous avons rapporté ailleurs (1) que le niveau de coumarines dans la racine d'*H. lehmannianum* Bge est en relation avec l'état physiologique de la plante. Il est maximum au moment de la floraison, ce qui correspond pour une plante en pleine terre dans la région parisienne au mois de juillet.

Afin de dissocier le facteur « âge physiologique » de l'influence climatique, nous examinerons, dans ce travail, la variation du taux de coumarines de la racine d'*H. lehmannianum* au cours des saisons.

Les individus étudiés ont été élevés en serre jusqu'à l'âge de 8 mois, puis placés à l'extérieur au mois de mars 1972 et repiqués en pleine terre deux mois plus tard.

* M.-C. Carbonnier-Jarreau : *Laboratoire de Palynologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 61, rue Buffon, 75005 Paris.*
J. Carbonnier et D. Molho : *Laboratoire de Chimie appliquée aux corps organisés, Muséum national d'Histoire naturelle, 63, rue Buffon, 75005 Paris.*

Résultats et discussion

L'espèce (fruits fournis par le jardin botanique de Coimbra, Portugal, et détermination vérifiée par I.-P. Mandenova) est considérée comme pluriannuelle. Au cours de la première année les individus ne produisent que des feuilles primordiales [1] ; les feuilles adultes stériles [1] apparaissent durant la seconde année ; pendant cette première période le système souterrain se développe considérablement et la racine, tout d'abord pivotante, devient fasciculée. Les feuilles disparaissent durant la saison hivernale ; la formation de rhizome n'est effective qu'après la première année. Au troisième printemps apparaît la hampe florale qui croît en 2 ou 3 semaines pour atteindre une hauteur de 2,50 m à 3 m. Les ombelles principales atteignent 50 à 70 cm de diamètre. Certaines présentent des phénomènes de stérilité mâle. La fructification s'effectue alors par fécondation croisée. Les fruits sont mûrs à la mi-août et se détachent courant septembre.

Les fruits tombés sur le sol ne germent pas l'année suivante. Les levées sont synchrones et ne se produisent qu'après un séjour de deux hivers dans le sol.

L'étude très détaillée du cycle vital d'*H. lehmannianum* a été rapportée par Temirbekov (**3**). Cet auteur confirme la latence de neuf à vingt et un mois des fruits dans le sol. Il a observé que la phase végétative variait de une à cinq années et remarqué que les quelques

Tableau I. — Variations saisonnières du contenu en coumarines : quantités de coumarines extractibles par l'éther de pétrole de 100 g de rhizome sec d'*Heracleum lehmannianum* Bge.

	Date	7/72	9/72	12/72	2/73	4/73	7/73	10/73	12/73	2/74	4/74	6/74	7/74	8/74
	Age (mois)	12	14	17	19	20	23	26	28	30	32	34	35	36
Extérieur	Stade	feuilles adultes primordiales	feuilles adultes primordiales	défeuillée	défeuillée	jeunes feuilles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	défeuillée	défeuillée	jeunes feuilles	croissance de la hampe florale	floraison	fructification
	Poids (mg)	100	145	155	25	55	110	155	190	30	110	190	340	245
En serre, 22°C 12 h de jour constant 18.000 lux / au sol	Stade	feuilles adultes primordiales	feuilles adultes primordiales	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	feuilles adultes stériles	mort des individus restants
	Poids (mg)	32	30	-	33	26	-	28	20·	-	20	30	20	10

Coumarines identifiées : marmésine (traces), columbianétine (traces), psoralène, bergaptène, isopimpinelline, angélicine, sphondine, isobergaptène et pimpinelline.

1. Définitions données dans (**2**).

sujets qui fleurissent dès la deuxième année meurent après fructification. La majorité fructifient lors de leur 3e année et un certain nombre de ces pieds refleurissent plusieurs années consécutives.

En fait, il s'agit d'une nouvelle pousse provenant du même rhizome, mais qui peut se produire à quelque distance de la précédente. Nous avons noté, après fructification, une nette dégradation de la partie du rhizome située au pied même de la hampe qui se dessèche. En conséquence, et bien que des sujets semblent vivre encore après huit années, il nous paraît préférable de parler de reproduction végétative, plutôt que d'espèce vivace.

En serre, malgré une vernalisation au réfrigérateur, le taux de germination est excessivement faible. Quelques individus ont été cultivés en serre durant trois années (22°C de jour, 18°C de nuit, lumière en jour constant de 12 h : 18 000 lux au sol). En longueur de jours constants, ils n'ont jamais fleuri et ont fini par mourir. Les quantités de furocoumarines contenues dans 100 g de racines sèches étaient plus faibles que celles renfermées dans les individus transplantés à l'extérieur. Ces quantités ne variaient pas sensiblement au cours des saisons (cf. tabl. I). Par contre, pour les individus cultivés à l'extérieur, on note tout au long de la vie de la plante de grandes variations de la quantité de coumarines contenue dans la partie souterraine (cf. tabl. I). On remarque l'existence de cycles annuels avec des maximums en décembre et des minimums en février. La fin de la végétation constitue cependant une exception puisque l'on observe un maximum en juillet et une régression dès le mois d'août (fructification). On constate, en outre, une légère progression du maximum de la deuxième année sur celui de la première.

Il est frappant de constater que la diminution du niveau des coumarines ne coïncide pas avec celle de la longueur des jours. C'est une différence sensible avec le comportement de la feuille, puisqu'il a été trouvé (4) une relation directe entre l'importance de l'ensoleillement et la quantité de furocoumarines contenue dans cet organe. Ainsi, malgré un ralentissement probable de la synthèse coumarinique en automne, l'accumulation de ces composés se poursuit dans la racine. Cette constatation laisse supposer que ces dérivés ne sont pas dégradés par la plante elle-même. On peut rapprocher cette déduction de la localisation précise des furocoumarines dans la plante. Nous avons montré (5) que celles-ci sont rassemblées dans les canaux sécréteurs où elles sont sous formes liées, par conséquent l'équilibre métabolique est constamment déplacé dans le sens de la synthèse des furocoumarines, d'où l'importance quantitative de ces métabolites.

La forte diminution du contenu en coumarines de la racine coïncide avec la période hivernale où la plante n'est plus feuillée et où les métabolismes sont fortement ralentis. On a observé (6) que le sol entourant les pieds d'*Heracleum* renferme des quantités appréciables de furocoumarines et l'on peut penser que celles de la racine diffusent dans le milieu environnant. Si l'on tient compte des propriétés antifongiques des coumarines de la racine d'*Heracleum* (7), et de l'activité inhibitrice de diverses furocoumarines extraites du genre (8), il semble possible d'attribuer à ces substances un rôle de protection des espèces du genre — protection s'exerçant par conditionnement du milieu — donc efficace dès l'approche d'éventuels parasites ou concurrents. Si la qualification de phytoalexines pour les furocoumarines des Ombellifères repose sur quelques expérimentations (9), la fonction allélopathique de ces constituants demeure discutable. En effet des relevés effectués dans des pelouses pyrénéennes, autour de pieds d'*H. granatense* Boiss. n'ont pas montré de différences phytosociologiques avec le milieu environnant. Nous avons cependant remarqué que

s'il est possible d'obtenir une population d'*H. lehmannianum* très dense, la multiplication s'effectue alors, uniquement, par voie végétative. Les jeunes plantules provenant d'un semis naturel n'apparaissent jamais à moins de deux mètres d'un individu adulte.

Conclusions

Le fait que, d'une part, les quantités de furocoumarines de la racine soient maximales en décembre durant les deux premières années d'existence de pieds d'*H. lehmannianum* placés à l'extérieur et que, d'autre part, aux même dates, les quantités de coumarines des racines d'individus cultivés en serre sous conditions invariantes, soient sensiblement stables, indique que ce cycle est sous la dépendance de paramètres climatiques.

Par contre, le bouleversement qui se produit durant la croissance de la hampe florale en juin montre que le maximum observé pendant la floraison est sous le contrôle de processus physiologiques qui prédominent sur les facteurs physiques.

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers M. M. Farille qui a bien voulu effectuer pour nous plusieurs relevés phytosociologiques dans les Pyrénées. Nous remercions également M. A. Faurillon qui s'est chargé d'entretenir nos cultures.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier, M. Farille & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., nº 522, Sci. phys.-chim. 19 : 3-11.
2. Cerceau-Larrival, M.-T., 1962. — « Plantules et pollens d'Ombellifères. Leur intérêt systématique et phylogénique ». Thèse. *Mém. Mus. natn. Hist. nat.*, Sér. B, **14** : 166 p.
3. Temirbekov, O., 1977. — *Rast. Res. S.S.S.R.*, **13** : 31-41.
4. Zhamba, G. E., 1969. — *Ukr. bot. Zh.*, **26** : 86.
5. Carbonnier-Jarreau, M.-C., A.-M. Cauwet, J. Carbonnier & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. natn., Paris*, 3e sér., nº 522, Sci. phys.-chim. 19 : 23-28.
6. Zhamba, G. E., 1972. — *Izv. Akad. Nauk Mold. S.S.R.*, ser. *Biol. Khim. Nauk* : 86-87.
7. Fischer, F. C., H. Van Doorne & G. Dannenberg, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères, Perpignan, 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 783-792, A.-M. Cauwet & J. Carbonnier Éd. : 866 p.
8. Juntilla, O., 1976. — *Physiologica Pl.*, **36** : 374-378.
9. Johnson, C. D., R. Brannon & J. Kuc, 1973. — *Phytochemistry*, **12** : 2961-2963.

Manuscrit déposé le 12 juillet 1978.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., n° 522, nov.-déc. 1978,
Sciences physico-chimiques 19 : 17-21.

Variations selon l'organe du contenu coumarinique de quelques Ombellifères

par Jacques Carbonnier et Darius Molho *

Mots-clés : *Heracleum lehmannianum, Tetrataenium sprengelianum, Vanasushava pedata* ; Coumarines, Furocoumarines, Dihydrofurocoumarines ; Translocation, Variations qualitatives et quantitatives.

Résumé. — Les fruits sont qualitativement et quantitativement plus riches en furocoumarines que les autres organes. On discute le rôle de ces dérivés.

Abstract. — Fruits are richer — quantitatively and qualitatively — in coumarins than the other parts of the plant. The possible role of coumarins is discussed.

Il a été montré que chez *Heracleum* les quantités de coumarines varient au cours de la journée (**1**), avec la saison (**2**) et avec l'âge physiologique de la plante (**3**).

Ce travail a pour objet d'étudier les variations quantitatives et qualitatives avec l'organe. Des représentants de trois genres d'Apioideae (Umbelliferae) ont été examinés : *Heracleum lehmannianum* Bge, *Tetrataenium sprengelianum* (Wight & Arn.) Manden. et *Vanasushava pedata* (Wight) Mukherjee & Constance.

Nous avons déjà signalé (**4**) que les feuilles d'*Heracleum mantegazzianum* Somm. & Lev. renferment des quantités très faibles de furocoumarines par rapport à celles isolées

Tableau I. — Poids relatifs en coumarines selon l'organe au moment de la fructification. (Valeur exprimée en pourcentage par rapport au poids de matériel végétal sec.)

Plantes adultes (Stade : fruits mûrs)	Fruits	Parties souterraines	Feuilles	Tiges vertes
Heracleum lehmannianum	4,5	2,45	0,02	< 0,01
Tetrataenium sprengelianum	4,8	3,5	—	—
Vanasushava pedata	1	0,2	< 0,01	< 0,01

* *Laboratoire de Chimie appliquée aux corps organisés, Muséum national d'Histoire naturelle, 63, rue Buffon, 75005 Paris.*

TABLEAU II. — Composition en coumarines d'*Heracleum lehmannianum*. (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau III.) t = traces.

		FRUITS	RACINES	PARTIES VERTES
Psoralène	(*1*)	+	+	+
Bergaptène	(*2*)	+	+	+
Isopimpinelline	(*4*)	+	+	+
Angélicine	(*9*)	+		+
Isobergaptène	(*10*)	+	+	+
Sphondine	(*11*)	+	+	+
Pimpinelline	(*12*)	+	+	+
Impératorine	(*5*)	+	+	
Phelloptérine	(*6*)	+	+	
Columbianétine	(*15*)	t	+	+
Marmésine	(*13*)	t		+
Byak-angélicol	(*7*)	+		

du fruit ou de la racine. Le tableau I montre que ce phénomène est également observé chez d'autres espèces d'Ombellifères. En fait le rapport entre le contenu coumarinique de la feuille et celui du fruit est de l'ordre de 1/100 ; il est légèrement plus élevé si l'on compare les feuilles et les racines. On constate donc une hiérarchie entre les organes vis-à-vis de leur possibilité d'accumuler les coumarines. Les quantités relatives les plus importantes sont trouvées dans les fruits, puis viennent les parties souterraines et enfin les feuilles et les tiges.

Ceci semble général chez de nombreuses Ombellifères, de telles conclusions ayant déjà été obtenues pour *Heracleum sosnowskyi* Manden. (**1**) et pour *Pastinaca sativa* L. (**5**).

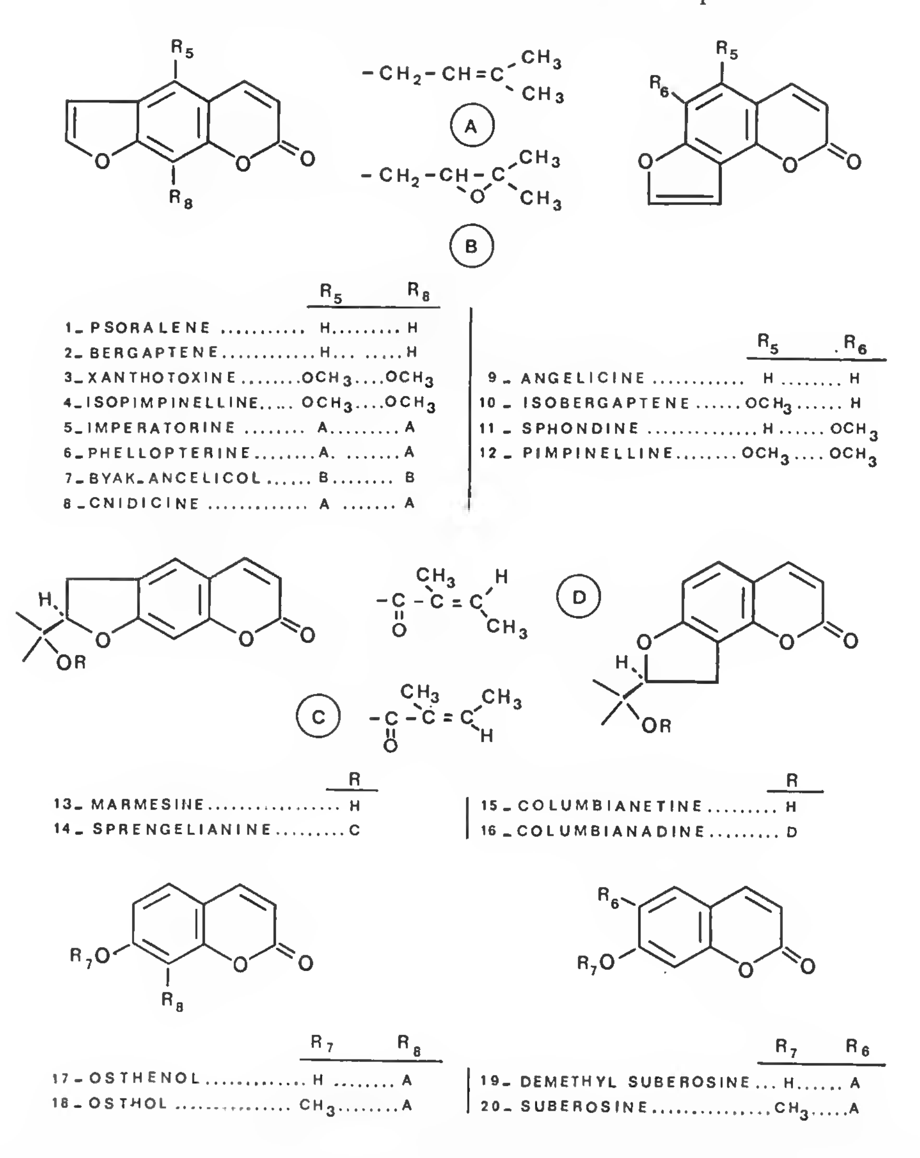
Au point de vue qualitatif on observe aussi des variations dans la composition de coumarines de chaque organe : le tableau II indique que chez *H. lehmannianum* cette différence concerne principalement le byak-angélicol. La spécificité de ce produit pour les fruits, au moins dans le genre *Heracleum*, paraît établie ; en effet, presque toutes les données disponibles dans la littérature (**6**) confirment ce point. Ceci est intéressant car le byak-angélicol est un produit d'oxydation de la phelloptérine (cf. tabl. III), présente chez presque toutes les espèces d'*Heracleum* (**6**) ; l'accumulation de byak-angélicol dans le seul fruit laisse supposer que sa formation s'effectue *in situ*.

Chez *Tetrataenium sprengelianum*, on observe (tabl. IV) que l'unique furocoumarine de l'espèce existe seulement dans le fruit, alors que les esters de dihydrofurocoumarines, ainsi que les précurseurs, sont accumulés dans la racine et les parties vertes. En conséquence la plante ne renferme de furocoumarines qu'en fin de végétation.

Chez *Vanasushava pedata* (tabl. V), le nombre de coumarines du fruit est beaucoup plus important que celui des autres organes, et les parties vertes ne contiennent que les précurseurs.

A ce sujet on remarque que les parties vertes des trois espèces étudiées renferment toujours ces précurseurs (marmésine et columbianétine) présents seulement à l'état de

Tableau III. — Formules des coumarines isolées des espèces étudiées.



traces dans les autres organes ; on peut se demander si cette répartition ne reflète pas les translocations des métabolites coumariniques. Il est, en effet, remarquable de constater que, si les précurseurs sont partout, les furocoumarines sont surtout accumulées dans les organes (rhizome et bandelettes des fruits (7)) qui doivent séjourner dans le sol durant la saison hivernale.

Or, il faut noter que les fruits restent plusieurs mois dans la terre avant de germer (**8**, **2**) et, compte tenu des activités antifongique et bactériostatique (**9**) des coumarines

Tableau IV. — Coumarines de *Tetrataenium sprengelianum.* (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau III.)

Coumarines		Fruits	Racines	Feuilles
Marmésine	(*13*)	+	+	+
Columbianétine	(*15*)	+	+	+
Columbianadine	(*16*)	+	+	+
Sprengélianine	(*14*)	+	+	+
Phelloptérine	(*6*)	+		

Tableau V. — Coumarines de *Vanasushava pedata.* (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau III.)

Coumarines		Fruits	Racines	Feuilles	Tiges
Osthénol	(*17*)	+	0	0	0
Osthol	(*18*)	+	+	0	0
Columbianadine	(*16*)	0	+	0	0
Columbianétine	(*15*)	+	+	+	+
Ester de marmésine	(—)	+	+	0	t
Marmésine	(*13*)	+	+	+	+
Subérosine	(*20*)	+	0	0	0
Déméthylsubérosine	(*19*)	+	0	0	0
Psoralène	(*1*)	+	0	0	0
Impératorine	(*5*)	+	+	0	0
Cnidicine	(*8*)	+	0	0	0
Xanthotoxine	(*3*)	+	0	0	0
Isopimpinelline	(*4*)	+	0	0	0

extraites d'*Heracleum*, on peut supposer que ces dérivés assurent la protection de la semence durant cette période. Par ailleurs, le pouvoir inhibiteur de germination est bien connu, leur rôle possible sur le contrôle de la dormance des graines d'*Heracleum* constitue donc une hypothèse raisonnable. Il est cependant difficile de savoir si la durée de cette latence correspond au temps de lessivage des téguments du fruit ou si, inversement, la survie de l'embryon, ne pouvant germer qu'après des vernalisations répétées, n'est assurée que par la présence des furocoumarines endogènes protectrices.

Matériel et méthodes

Heracleum lehmannianum Bge et *Tetrataenium sprengelianum* (Wight & Arn.) Manden. — Même origine que (**3**).

Vanasushava pedata (Wight) Mukherjee & Constance. — Même origine que (**11**).

Séparation, identification et caractéristiques physiques des constituants décrites dans (**10**) et (**11**).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Zhamba, G. E., 1969. — *Ukr. bot. Zh.*, **26** : 86.

2. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 3e sér., no 522, Sci. phys.-chim. 19 : 13-16.

3. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier, M. Farille & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 3e sér., no 522, Sci. phys.-chim. 19 : 3-11.

4. Jossang, P. T., J. Carbonnier & D. Molho, 1969. — *Trav. Lab. « La Jaysinia »*, **3** : 187-195.

5. Simsova, J., & Z. Blazek, 1967. — *Čslkà Farm.*, **16** : 22-28.

6. Carbonnier, J., O. Fatianoff & D. Molho, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères, Perpignan, 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 387-513, A.-M. Cauwet-Marc & J. Carbonnier, Éd. : 866 p.

7. Carbonnier-Jarreau, M.-C., J. Carbonnier, A.-M. Cauwet-Marc & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris.*, 3e sér., no 522, Sci. phys.-chim. 19 : 23-28.

8. Temirbekov, O., 1977. — *Rast. Res. S.S.S.R.*, **13** : 31-41.

9. Fischer, F. C., H. Van Doorne & G. Dannenberg, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères, Perpignan, 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 783-792, A.-M. Cauwet-Marc & J. Carbonnier, Éd. : 866 p.

10. Carbonnier, J., & D. Molho, 1977. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 3e sér., no 484, Sci. phys.-chim. 12 : 1-17.

11. Molho, D., P. Jossang, M.-C. Jarreau et J. Carbonnier, 1971. — *In* : Heywood : « The Biology and Chemistry of the Umbelliferae », Suppl. 1, *Bot. J. linn. Soc.*, **64** : 337-360. Acad. Press Ed., London, 438 p.

Manuscrit déposé le 12 juillet 1978.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., nº 522, nov.-déc. 1978,
Sciences physico-chimiques 19 : 23-28.

Localisation des coumarines chez quelques espèces d'*Heracleum* L.

par M.-C. Carbonnier-Jarreau, J. Carbonnier, A.-M. Cauwet-Marc et D. Molho *

Mots-clés : Furocoumarines, Localisation, Méricarpes, *Heracleum*, *Tetrataenium*, *Zozimia*.

Résumé. — La dissection de fruits de quelques Pastinaceae a permis de montrer que les furocoumarines sont localisées uniquement dans le tégument des méricarpes. Des observations *in situ*, sous lumière U.V. indiquent que les furocoumarines sont accumulées dans les canaux sécréteurs et plus particulièrement dans les *vittae*. La comparaison de la longueur d'onde d'émission de fluorescence, *in situ* avec celle des constituants extraits des *vittae* correspondantes, suggère qu'il existe naturellement des liaisons entre les furocoumarines et le substrat.

Abstract. — Dissection of the fruits of some Pastinaceae showed that furanocoumarins were located exclusively in teguments of mericarps. *In situ*, observations under U.V. light established that furanocoumarins accumulate in secretory canals, and particularly in *vittae*. A comparison of wave-lengths of fluorescence emitted light *in situ* with those of pure constituents extracted of the *vittae*, suggested that furanocoumarins are naturally bound substrate.

Nous avons montré précédemment chez *Heracleum* (1) que les quantités de coumarines variaient très largement avec l'organe, ce qui se produit d'ailleurs chez de nombreuses autres espèces d'Ombellifères (2), (3). Pourtant le fruit est toujours, en valeur relative, la partie de la plante la plus riche en coumarines ; dans certaines espèces, ce taux approche 3 % (1).

Le présent travail se propose d'étudier plus précisément la localisation histologique des furocoumarines du fruit. *Heracleum minimum* Lam., *H. wallichii* DC., *H. lehmannianum* Bge, *H. lanatum* Michx., *H. ceylanicum* Gardn., *T. sprengelianum* (Wight et Arn.) Manden. et *Zozimia absinthifolia* (Vent.) DC. ont été choisis pour servir de support à ces investigations.

Résultats

Lorsque l'on sème des fruits de *H. wallichii* en serre, la levée est effective dans les quinze jours suivants. Lors de la germination, les cotylédons entraînent à leur extrémité les téguments de la graine et ceux-ci peuvent alors être aisément collectés. *Leur analyse*

* M.-C. Carbonnier-Jarreau, *Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire de Palynologie de l'ÉPHÉ, 61, rue de Buffon, 75005 Paris.*

J. Carbonnier et D. Molho, *Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire de Chimie appliquée aux Corps organisés, 63, rue de Buffon, 75005 Paris.*

A.-M. Cauwet-Marc, *Centre Universitaire, Laboratoire de Botanique, avenue de Villeneuve, 66025 Perpignan Cedex.*

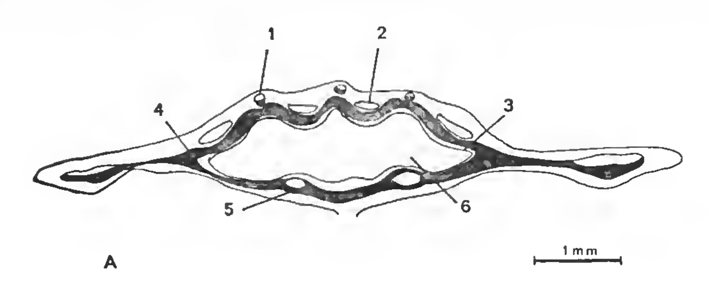
révèle une composition coumarinique qualitative et quantitative identique à celle du fruit entier [1] *et profondément différente de celle des cotylédons* (ces derniers ne renferment que des dihydrofurocoumarines et du bergaptène). La totalité des coumarines du fruit se trouve donc localisée dans le tégument.

Chez *H. lanatum*, la dissection du fruit, après imbibition dans l'eau, permet de séparer facilement la graine de son enveloppe. L'analyse de ces deux parties montre alors, comme dans le cas précédent, que cette dernière renferme toutes les coumarines du fruit de l'espèce [1] alors que l'albumen et l'embryon en sont totalement dépourvus.

Ces deux observations fournissent donc la preuve que les furocoumarines que l'on rencontre dans les jeunes plantules d'*Heracleum* (**6**) sont des produits néoformés qui ne proviennent en aucun cas des graines dont elles sont issues.

Si, d'une façon générale, il semble acquis que la distribution des coumarines du fruit soit restreinte au seul tégument, on peut toutefois s'interroger sur leur localisation exacte à l'intérieur de celui-ci.

La scarification du tégument des fruits de *H. lehmannianum*, *H. wallichii* et *Zozimia absinthifolia* permet d'inciser les bandelettes ; une macération dans le chloroforme extrait



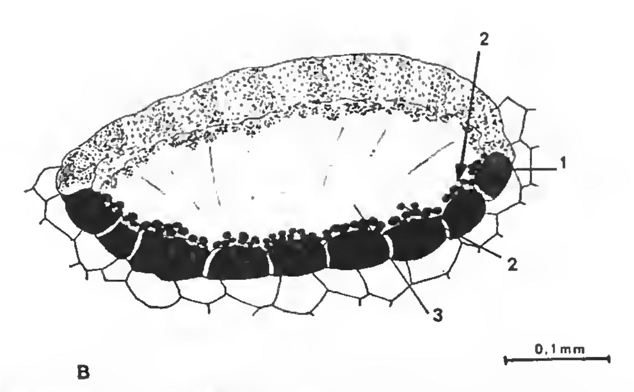


Fig. 1. — Fruit de *Tetrataenium sprengelianum* (Wight & Arn.) Manden.
A : Coupe transversale du méricarpe. 1, Faisceau libéro-ligneux ; 2, Bandelette (ou *vittae*) dorsale ; 3, Testa ; 4, Sclérocarpe ; 5, Bandelette commissurale ; 6, Albumen.
B : Coupe transversale d'une *vittae*. 1, Cellule sécrétrice fortement fluorescente ; 2, Concrétions présentant une fluorescence jaune-vert ; 3, Lumière du canal.

1. Composition coumarinique du fruit de *H. wallichii* donnée dans (**6**), celle de *H. lanatum* dans (**5**).

alors la plus grande partie des furocoumarines qui y sont contenues. Qualitativement on retrouve dans ces *vittae* toutes les coumarines du fruit [1]. Par ailleurs, après avoir pratiqué chez *H. lanatum* la même opération sur les bandelettes dorsales d'une part et commissurales d'autre part, nous avons pu observer l'exacte similitude de leurs contenus coumariniques.

Enfin, nous n'avons pas trouvé de coumarines dans les ailes des fruits de *Z. absinthifolia* ou *H. wallichii*, par contre les canaux sécréteurs costaux des fruits de ces deux espèces en contiennent de faibles quantités.

Nous avons tenté de vérifier ces premiers résultats obtenus par extraction de parties d'organe, par des observations *in situ*. Pour cela nous avons examiné des coupes transversales de fruits sous un microscope photonique éclairé par une source de lumière ultraviolette. Les furocoumarines sont des substances fluorescentes qui, dans ces conditions, ont pu être facilement localisées : les sites fluorescents correspondent à l'emplacement de tous les canaux sécréteurs (canaux sécréteurs costaux et bandelettes ou *vittae*). Cependant nous avons remarqué une accumulation particulièrement importante au niveau des *vittae* ; dans le fruit immature toute la lumière du canal est fluorescente, tandis que dans le fruit mûr les furocoumarines se présentent sous forme de concrétions qui tapissent le pourtour des bandelettes (voir fig. 1).

Il semble d'ailleurs que cette localisation des furocoumarines dans les canaux sécréteurs soit commune à divers genres d'Ombellifères ; des résultats équivalents ont en effet été obtenus pour *Pastinaca sativa* L. (**8**), *Phlojodicarpus sibiricus* K.-Pol. (**9**), *Ammi majus* L. (**10**) et *Ferula conocaula* Korov. (**11**). Ladygina *et al.* (**8**) signalent la présence de petits

Tableau I. — Observations des fluorescences des canaux sécréteurs des fruits de quelques Pastinaceae. (Microscope à fluorescence Leitz. Excitation par lampe à vapeur de mercure Philips CS 200 W/h. Filtres UG5 1 mm + K 470.)

Espèces	Fluorescence *in situ*	Fluorescence de l'extrait chloroformique des *vittae* sous irradiation UV long.
H. minimum	jaune d'or	bleu-violet
H. sprengelianum	jaune-vert	bleu-violet
H. ceylanicum	jaune-vert	bleu-violet
H. lanatum	jaune orangé	jaune-bleu
H. lehmannianum	ocre-jaune	jaune

(Voir le détail des compositions en coumarines de ces espèces dans (**5**).)

1. La composition coumarinique des fruits de *H. lehmannianum* a déjà été donnée dans (**5**). Dans les méricarpes de *Zozimia absinthifolia*, en plus de la deltoïne et de la columbianadine déjà signalée (**7**), nous avons trouvé de la marmésine, de la columbianétine, du psoralène, du bergaptène, de l'isopimpinelline, de l'impératorine, de l'isobergaptène, de la pimpinelline et de la sphondine.

cristaux fluorescents en jaune-vert dans les canaux de *P. sativa*, mais nous ne pensons pas qu'il puisse s'agir d'un simple dépôt cristallin... les couleurs de réémission de fluorescence ne correspondant pas à ce que l'on attend de ces constituants. Le tableau oppose les fluorescences observées *in situ* et celle des extraits obtenus par lessivage chloroformique des fruits étudiés après incision des bandelettes [1].

La comparaison des émission de fluorescence observées dans le fruit avec celles obtenues par irradiation U.V. de la solution chloroformique de l'extrait correspondant montre, dans tous les exemples, un déplacement bathochrome dans le cas de l'examen *in situ*. Nous interprétons ce phénomène comme étant dû à l'existence de liaisons entre le substrat et les furocoumarines tout comme cela a été observé au cours de la chromatographie sur couche mince de ces composés avec différents supports (**12**).

A la suite de ces observations il apparaît donc tout à fait probable que les furocoumarines accumulées dans les *vittae*, n'y figurent pas, au moins au stade fruit mûr, sous forme libre.

Discussion

Nous avons montré par ailleurs (**1**) et (**4**) que certains constituants coumariniques des Ombellifères sont particuliers au fruit et n'apparaissent dans la plante qu'après la fécondation. Cette observation soulève le problème d'une éventuelle influence de ce phénomène sur la biosynthèse de ces coumarines. Sans qu'il soit possible de spéculer sur les mécanismes qui déclenchent ce processus, on peut au moins, à la lumière des données établies présentement, rejeter l'hypothèse d'une acquisition d'information nouvelle transmise par le génome du pollen.

Nous venons en effet de montrer que les furocoumarines du fruit sont présentes uniquement dans le tégument de celui-ci ; or ce tégument n'est rien d'autre que le reste du sporophyte parental (2 *n* chromosomes) lequel n'a pu être en aucune façon modifié par le génome du pollen fécondant (*n* chromosomes).

Dès lors, si une information nouvelle a été apportée par ce dernier, au cours de la fécondation croisée nécessaire à la reproduction non végétative de la plupart des Ombellifères, celle-ci ne pourra être observée qu'à la génération suivante puisque les produits signalés dans le tégument sont uniquement liés au métabolisme de la plante mère. Si donc la fécondation joue un rôle dans la mise en œuvre de certaines voies biogénétiques des coumarines, ce rôle est de nature physiologique et non génétique.

Il resterait à établir le rôle de ces constituants enfermés dans les *vittae* d'un fruit qui devra séjourner plusieurs mois dans le sol avant de germer.

A ce sujet, un certain nombre d'hypothèses ont été avancées ; elles concernent plus particulièrement la protection de l'espèce (**13**) et l'extension géographique du genre (**14**), (**15**) par colonisation de nouvelles aires (**16**).

1. L'observation des téguments, au microscope à fluorescence, après cet épuisement chloroformique des *vittae* montre que les concrétions fluorescentes ont disparu.

Matériel et méthodes

Heracleum minimum Lam. — Éboulis schisteux sous le sommet du Haut Chabanon. Au-dessus de la bergerie des Chauvets commune de Salonnet (Hautes-Alpes) Fr. ; coll. et déterm. M. Farille & J. Carbonnier, le 10.IX.1974. Herb. réf. J. C. 71.110.

Heracleum wallichii DC. — Voir origine dans (**6**).

Heracleum lehmannianum Bge. — Voir origine dans (**6**).

Heracleum lanatum Michx. — Voir origine dans (**5**).

Heracleum ceylanicum Gardn. — Horton Plain. Route de Diyagama. 2 000 m alt. Ceylan ; coll. et déterm. J. Hladik. Herb. réf. Hladik 889.

Tetrataenium sprengelianum (Wight & Arn.) Manden. — Voir origine dans (**1**).

Zozimia absinthifolia (Vent.) DC. — Mustapha Paça (village des environs de Ürgup. Cappadoce. Turquie ; coll. et déterm. J. Carbonnier & M.-C. Carbonnier-Jarreau, le 19.VIII.1971. Herb. réf. J. C. 71.103.

Observations microscopiques : Coupes transversales sans coloration. Microscope à fluorescence Leitz. Excitation par lampe à vapeur de mercure Philips CS 200 W/h. Filtre UG 5 1 mm et filtre d'arrêt K 470. Photographie Kodachrome II KPA. 135-140 ASA.

Extractions : Macération dans le chloroforme à froid durant 2 h et extractions éthéro-pétroliques au soxhlet durant 48 h.

Séparation et identification des produits : Cf. (**5**).

Remerciements

Nous remercions C. Le Coq (Laboratoire de Biologie végétale du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris) pour l'aide qu'il nous a apportée lors des observations au microscope à fluorescence.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Carbonnier, J., & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., n° 522, Sciences physico-chimiques, 19 : 17-21.

2. Stahl, E., & D. Hertin, 1976. — *Planta med.*, **29** : 1-9.

3. Ashirova, A. A., & K. Meredoc, 1974. — *Iztv. Nauk Turkm. SSSR*, Ser. *Biol. Nauk.* : 66-68.

4. Carbonnier, J., & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., n° 522, Sciences physico-chimiques 19 : 29-35.

5. Molho, D., P. Jossang, M. C. Jarreau & J. Carbonnier, 1971. — *In* : Heywood V. H., *The Biology and chemistry of the Umbelliferae* : 337-360. Academic Press. Ed. London : 438 p.

6. Carbonnier-Jarreau, M. C., J. Carbonnier, M. Farille & D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., nº 522, Sciences physico-chimiques 19 : 3-11.

7. Nikonov, G. K., & D. I. Barnauskaite, 1965. — *Khim. prir. Soedin.*, **1** : 220-223.

8. Ladygina, E. Ya., V. A. Makarova & N. S. Ignat'eva, 1970. — *Farmatcija* (Moscou), **19** (6) : 29-35.

9. Ladygina, E. Ya., 1970. — *Farmatcija* (Moscou), **19** (4) : 30-36.

10. Pogorelova, O. V., 1975. — *Farmatcija* (Moscou), **24** (6) : 22-26.

11. Moroz, M. D., & E. Ya. Ladygina, 1974. — *Farmatcija* (Moscou), **23** (3) : 27-33.

12. Carbonnier, J., & D. Molho, 1976. — Communication aux journées d'étude du groupe polyphénols, Dijon, mai 1976.

13. Fischer, F. C., H. Van Doorne & G. Dannenberg, 1978. — *In* : Actes du 2e Symp. internation. sur les Ombellifères. Perpignan 1977 : « Contribution pluridisciplinaire à la systématique » : 783-792. A. M. Cauwet-Marc & J. Carbonnier, Éd. : 866 p.

14. Junttila, O., 1975. — *Physiologia Pl.*, **33** : 22-27.

15. Junttila, O., 1976. — *Physiologia Pl.*, **36** : 374-378.

16. Zhamba, G. E., 1972. — *Izv. Akad. Nauk. Mold. SSR.*, Sér. *Biol.khim. Nauk* : 86-87.

Manuscrit déposé le 12 juillet 1978.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., no 522, nov.-déc. 1978,
Sciences physico-chimiques 19 : 29-35.

Modification du contenu en coumarines des inflorescences d'*Angelica silvestris* L.

par Jacques Carbonnier et Darius Molho *

Mots clés : Coumarines, Furocoumarines. Ontogénie.

Résumé. — Treize coumarines ont été trouvées dans le fruit d'*Angelica silvestris* L. : Ombelliférone, ombelliprénine, scopolétine, isoimpératorine, oxypeucédanine, hydrate d'oxypeucédanine, impératorine, xanthotoxol, xanthotoxine, phelloptérine, byakangélicol, β-cyclolavandulyloxy-5 psoralène et marmésine. Les quantités relatives de coumarines contenues dans les organes reproducteurs augmentent à partir de la fécondation ; elles sont maximales dans le fruit vert. Certains dérivés comme le byakangélicol et le β-cyclolavandulyloxy-5 psoralène n'apparaissent qu'après la fécondation. L'importance quantitative de la marmésine, précurseur commun à toutes les furocoumarines de l'espèce, diminue au cours de l'ontogénie carpologique. En règle générale, l'ordre d'apparition des furocoumarines ou l'augmentation de leur quantité suit le schéma biogénétique.

Abstract. — 13 coumarins were found in the fruits of *Angelica silvestris* L. : Umbelliferone, umbelliprenin, scopoletin, isoimperatorin, oxypeucedanin, oxypeucedanin hydrate, imperatorin, xanthotoxol, xanthotoxin, phellopterin ; byakangelicol, 5-β-cyclolavandulyloxy-psoralen and marmesin. The proportions of coumarins found in reproductive organs increase from fecondation onwards, maximum values are reached in unripe fruits. Some of the compounds (byakangelicol, 5-β-cyclolavandulyloxypsoralen) are found only when fecondation has taken place. The amount of marmesin, common precursor to all the coumarins in this species, decreases during carpological ontogenesis. In general, appearance and increase of coumarins follow the biogenetic scheme.

Introduction

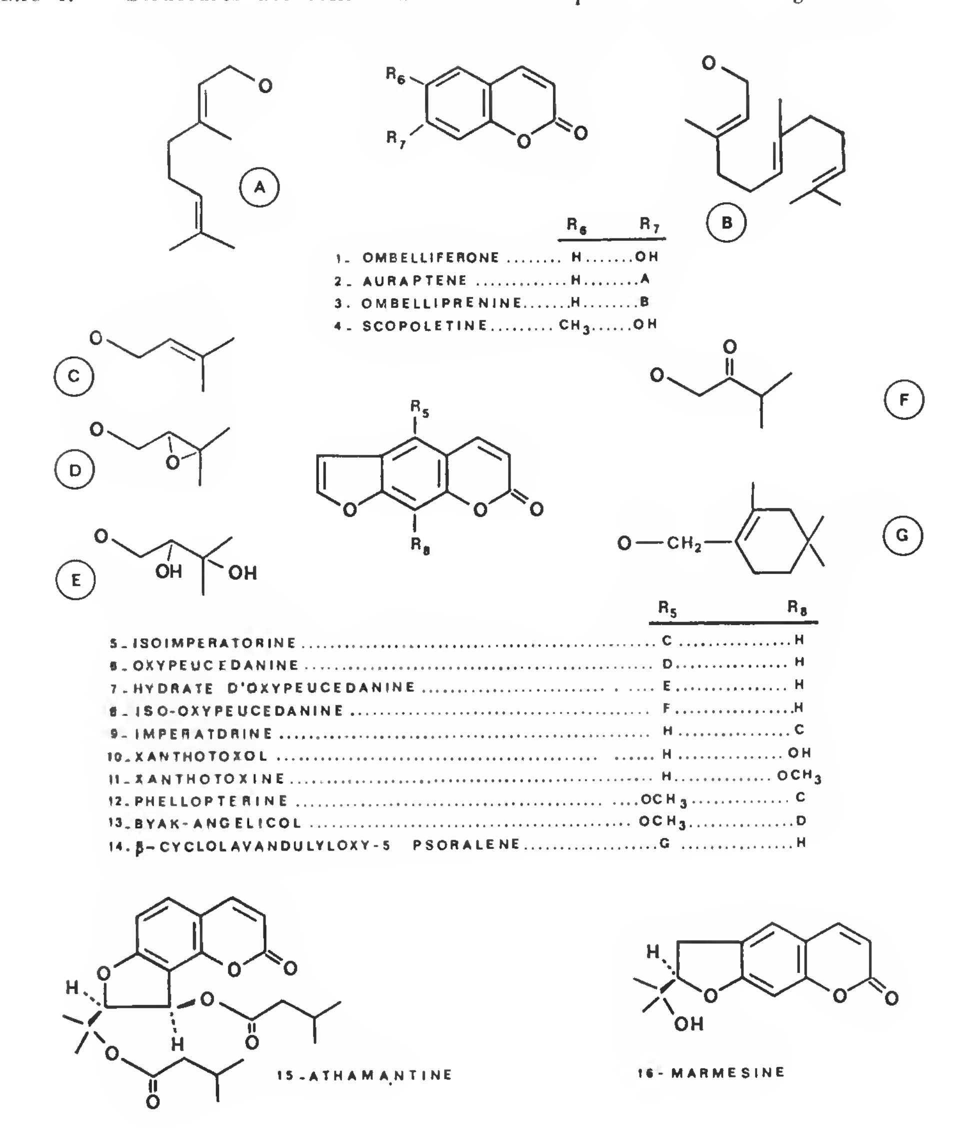
La recherche des coumarines chez *Angelica silvestris* L. a déjà fait l'objet de nombreux travaux (1 à 9). Actuellement douze coumarines ont été recensées dans le fruit ; il s'agit de l'ombelliférone (*1*) [1], de l'auraptène (*2*), de l'ombelliprénine (*3*), de la scopolétine (*4*), de l'hydrate d'oxypeucédanine (*7*), de l'isooxypeucédanine (*8*), de l'impératorine (*9*), du xanthotoxol (*10*), de la xanthotoxine (*11*) et de l'athamantine (*15*). Il convient d'ajouter

* *Laboratoire de Chimie appliquée aux Corps organisés, Muséum national d'Histoire naturelle, 63, rue Buffon, 75005 Paris.*

1. Les formules sont données dans le tableau I.

à cette liste une substance de structure inconnue [2] : l'angésine (**5, 7**) (**8**) [3] qui attira l'attention pour ses propriétés pharmacologiques (**3**).

Tableau I. — Structures des constituants coumariniques du fruit d'*Angelica silvestris* L.



2. D'après Gonzalez *et al.* (**10**), il s'agit d'une furocoumarine linéaire.
3. D'après la mise au point de Pimenov (**11**).

L'inflorescence a été très peu étudiée, seule l'ombelliférone y est signalée.

Nous nous proposons d'examiner de nouveau la fleur de cette espèce, puis d'en étudier l'évolution du contenu coumarinique après fécondation jusqu'au stade « fruits mûrs ».

Résultats et discussion

En ce qui concerne l'inventaire des coumarines contenues dans le fruit mûr, nous confirmons la présence des composés signalés par la littérature, excepté celles de la géra-

Tableau II. — Analyse des coumarines des organes reproducteurs d'*Angelica silvestris* L. au cours de l'ontogénie carpologique. (Les numéros des produits renvoient aux formules du tableau I.) t = traces.

Stades		Boutons floraux	Fleurs fécondées	Très jeunes fruits immatures	Fruits immatures mais de taille définitive	Fruits complètement mûrs
Marmésine	*(16)*	+++	+++	++	+	t
Ombelliprénine	*(3)*	++++	++++	++++	++++	++++
Xanthotoxine	*(11)*	+	+	+	+	+
Impératorine	*(9)*	+++	+++	+++	+++	+++
Isoimpératorine	*(8)*	++++	++++	++++	++++	++++
Phelloptèrine	*(12)*	++	++	++	++	++
Oxypeucédanine	*(6)*	+	++	++++	++++	+++++
Oxypeucédanine hydrate	*(7)*	0	t	+	++	+++
Byak-angélicol	*(13)*	0	0	+	++	+++
β-Cyclolavandulyloxy-5 psoralène	*(14)*	0	0	+	+++	++++
Poids de l'ensemble des coumarines en % de matériel sec		1,2 %	1,7 %	1,9 %	2,5 %	1,8 %

Expression semi-quantitative relative, appréciée en chromatographie sur couche mince en fonction du diamètre des taches, avec une prise d'essai standardisée : poids de matériel sec, volume de solvant reprenant l'extrait, capillaires calibrés pour les dépôts.

nyloxy-7 coumarine ou auraptène, de l'isooxypeucédanine et de l'athamantine, que nous n'avons pas retrouvées. Aux neuf coumarines restantes nous ajoutons la marmésine (*16*), la phelloptérine (*12*), le byakangélicol (*13*) et le β-cyclolavandulyloxy-5 psoralène (*14*) (**12**). D'autres coumarines minoritaires, non encore identifiées, sont présentes dans le fruit.

Les coumarines possédant un hydroxyle phénolique (ombelliférone, scopolétine et xanthotoxol) ne seront pas étudiées au cours de la formation du fruit ; ces composés, en faibles quantités dans le fruit, ne sont, en effet, pas extraits dans les meilleures conditions par l'épuisement éthéropétrolique utilisé pour isoler les dix autres constituants coumariniques, dont on tentera d'apprécier l'évolution quantitative au cours de l'ontogénie carpologique.

Cinq stades ont été examinés : ombelle en boutons floraux, fleurs ouvertes, très jeunes fruits immatures, fruits verts mais de taille définitive et fruits complètement mûrs. Le tableau II résume les appréciations quantitatives relatives aux constituants analysés.

On remarquera tout d'abord que les quantités totales de coumarines extraites augmentent au fur et à mesure de l'avancement de la formation du fruit et sont maximales dans le fruit vert. Toutefois cette évolution n'intéresse pas tous les constituants et il convient de différencier plusieurs catégories de produits selon leur comportement ; on distinguera ainsi :

1. Les dérivés absents des boutons floraux, qui apparaissent au moment de la fécondation et dont l'accumulation s'accroît au cours du mûrissement ; c'est le cas de l'hydrate d'oxypeucédanine, du β-cyclolavandulyloxy-5 psoralène et du byakangélicol.

2. Un composé, l'oxypeucédanine, présent dans la fleur et dont la quantité augmente avec le temps.

3. Les coumarines dont les quantités relatives sont à peu près stables durant la même période : phelloptérine, isoimpératorine, impératorine, xanthotoxine et ombelliprénine.

4. La marmésine, précurseur des furocoumarines linéaires (**13**) dont les quantités relatives diminuent pendant que le taux global de furocoumarines augmente.

Il est intéressant de noter que le niveau des furocoumarines O-isoprénylées (isoimpératorine, impératorine et phelloptérine) est pratiquement stable entre la floraison et la fin de la fructification ; par contre, la synthèse de leurs produits d'oxydation (oxypeucédanine, hydrate d'oxypeucédanine et byakangélicol) se manifeste surtout au cours du mûrissement.

On constate dès lors que l'évolution du contenu en coumarines de la fleur reflète l'ordonnance biogénétique (**14**) du métabolisme de ces dérivés ; la diminution du taux de marmésine confirme ce point puisque l'élaboration de constituants complexes s'accompagne de la régression de leur précurseur. Ce parallélisme entre la succession des étapes biosynthétiques des furocoumarines, l'ordre de leurs apparitions et le développement de la plante a déjà été remarqué au niveau de la racine des plantules chez *Heracleum* (**15**). Ce processus

tend à montrer que l'ensemble des possibilités métaboliques d'un végétal ne s'exprime pas totalement à toutes les étapes de sa vie. L'ontogénie a donc sa traduction chimique, au moins à certains stades de développement particulièrement importants.

Il convient enfin de remarquer que l'apparition de nouveaux métabolites dans le fruit coïncide avec la fécondation. Cependant la composition coumarinique du fruit est indépendante du résultat de cette fécondation ; en effet, l'analyse de fruits avortés conduit à des résultats identiques à ceux obtenus à partir de fruits fertiles.

Matériel et méthodes

Angelica silvestris L. — Récoltée à Bellcroche (Loire, France) au cours de la saison 1974. Coll. L. & D. Molho ; déterm. A.-M. Cauwet. Herbier réf. JC 74-226.

Extraction et séparation des constituants : Voir (**15**).

Contrôles chromatographiques

Les substances (*2*), (*8*) et (*15*) ont été recherchées par chromatographie sur couche mince analytique au moyen des systèmes suivants (silice Polygram Macherey-Nagel + Co) : système I : cyclohexane/acétate d'éthyle, 75/25 ; système II : chloroforme/benzène, 50/50.

Le fait que nous disposions de produits de référence nous permet de conclure à l'absence de ces composés dans les fruits de la population d'*A. silvestris* étudiés.

L'échantillon d'auraptène (*2*) avait été isolé, au Laboratoire, de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. (**18**), ceux d'isooxypeucédanine (*8*) et d'athamantine (*15*) nous ont été envoyés par B. E. Nielsen.

Données analytiques

1. — *Renvois bibliographiques pour les produits que nous avons déjà isolés.*

β-Cyclolavandulyloxy-5 psoralène (*14*), cf. (**12**). Marmésine (*16*) cf. (**16**). Xanthotoxine (*11*) cf. (**17**). Impératorine (*9*) cf. (**17**). Phelloptérine (*12*) cf. (**17**). Byakangélicol (*13*) cf. (**17**). Les numéros des substances renvoient aux formules données dans le tableau I.

2. — *Propriétés caractéristiques*

Nos	Produits	F °C *	M+ **	CCM Rf (I)	CCM Rf (II)	Fluorescence sur silice
1	Ombelliférone	224	162	0,19	0,05	bleu clair
3	Ombelliprénine	60	366	0,83	0,45	bleu-violet
4	Scopolétine	203	192	0,07	0,06	bleu clair
5	Isoimpératorine	109	270	0,72	0,35	jaune
6	Oxypeucédanine	141	286	0,28	0,15	jaune
7	Hydrate d'oxypeucédanine	132	288	0,03	0,01	jaune

CCM silice : (I) cyclohexane/acétate d'éthyle, 75/25 ; (II) chloroforme/benzène, 50/50.
* Point de fusion du mélange avec l'échantillon de référence non abaissé, non corrigé, mesuré au microscope Kofler à platine chauffante.
** Appareil de spectrométrie de masse Thomson-Houston THN 208.

3. — *Données spectrométriques de* RMN ^{1}H

Appareil Varian A 60, TMS référence interne, δ ppm.

1. — Ombelliférone (solvant d_6-DMSO) : H-3 6,11 d (J = 9,5 Hz) ; H-4 7,83 d (J = 9,5 Hz) ; H-5 7,42 d (J = 8,5 Hz) ; H-6 6,68 d (J = 8,5 Hz) d (J = 2,5 Hz) ; H-8 6,62 d (J = 2,5 Hz) ; OH 10,2.

3. — Ombelliprénine (solvant $CDCl_3$) : H-3 6,26 d (J = 10 Hz) ; H-4 7,63 d (J = 10 Hz) ; H-5 7,33 d (J = 9 Hz) ; H-6 et H-8 6,82 m ; CH_2O 4,60 d (J = 7 Hz) ; 4 H éthyléniques 5,48-5,10 m ; 4 CH_2 2,10-1,59 m ; CH_3 1,60 s et 1,66 ; gem diméthyle 1,26 s.

4. — Scopolétine (solvant d_6-DMSO) : H-3 6,18 d (J = 9,5 Hz) ; H-4 7,87 d (J = 9,5 Hz) ; H-5 7,18 s ; H-8 6,75 s ; OCH_3 3,80 ; OH 10,2.

5. — Isoimpératorine (solvant : $CDCl_3$) : H-3 6,21 d (J = 9,5 Hz) ; H-4 8,11 d (J = 9,5 Hz) ; H-8 7,09 d (J = 1 Hz) ; H-2' 7,55 d (J = 2 Hz) ; H-3' 6,92 d (J = 2 Hz) d (J = 1 Hz) ; chaîne en C_5 : H_a 4,88 d (J = 7 Hz) ; H_b 5,52 t (J = 7 Hz) q (J = 1 Hz), 2 CH_3 1,69 d (J = 1 Hz).

6. — Oxypeucédanine (solvant $CDCl_3$) : H-3 6,22 d (J = 9,5 Hz) ; H-4 8,12 d (J = 9,5 Hz) ; H-8 7,05 t (J = 1 Hz) ; H-2' 7,57 d (J = 2 Hz) ; H-3' 6,92 d (J = 2 Hz) d (J = 1 Hz) ; chaîne en C_5 : H_a 4,36 d (J = 6,5 Hz) d (J = 11 Hz), H_b 3,20 d (J = 4 Hz) d (J = 6,5 Hz), 2 CH_3 1,33 et 1,40 s.

7. — Hydrate d'oxypeucédanine (solvant $CDCl_3$) : H-3 6,15 d (J = 9,5 Hz) ; H-4 8,10 d (J = 9,5 Hz) ; H-8 7,01 d (J = 1 Hz) ; H-2' 7,53 d (J = 2 Hz) ; H-3' 6,93 d (J = 2 Hz) d (J = 1 Hz) ; chaîne en C_5 : H 4,37 d (J = 7 Hz) d (J = 9 Hz), 3,87 d (J = 3,5 Hz) d (J = 7,5 Hz), 4,53 d (J = 3,5 Hz) d (J = 9 Hz), 2 CH_3 1,30 et 1,34 s.

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers les Prs B. E. Nielsen, J. B. Harborne et G. A. Kuznetsova pour leurs envois d'échantillons de furocoumarines, nous ayant ainsi facilité l'identification des constituants d'*Angelica silvestris* L.

Nous remercions MM. Brouard et Davoust pour leurs analyses spectrométriques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Svendsen, B. A., 1954. — Zur Chemie norwegischer Umbelliferen. J. Grundt Tanum Forlag, Oslo, 144 p.

2. Svendsen, B. A., 1958. — *Medd. norsk farm. Selsk.*, **20** : 1-18.

3. Khadzai, Y. I., et V. F. Sokolova, 1960. — *Farmakol. Toksikol.*, **23** : 37-42.

4. Caporale, G., et G. Rodighiero, 1961. — *Ric. sci. Rend.*, Sect. B, **2** : 127-130.

5. Prokopenko, A. P., et D. G. Kolesnikov, 1961. — *Dokl. farm. Konf. Bakov* : 90-91.

6. Hörhammer, L., H. Wagner et W. Eyrich, 1963. — *Z. Naturforsch.*, **18**b : 639-641.

7. Zoz, I. G., et A. P. Prokopenko, 1968. — *Rastit. Res.*, **4** : 478-485.

8. Prokopenko, A. P., et D. G. Kolesnikov, 1965. — *Tr. bot. Inst. Akad. Nauk S.S.S.R.*, Ser. 5, **12** : 66-70.

9. Prokopenko, A. P., 1970. — *Postep. Dziedzinie Leku Rosl., Pr. Ref. Dosw. Wygloszone Symp.* : 90-93 (paru en 1972).

10. Gonzalez, A. G., R. J. Cardona, H. Lopez, J. M. Medina et F. Rodriguez-Luis, 1976. — *Rev. real Acad. Ci. Madrid*, **70** : 109-206.

11. Pimenov, M. G., 1971. — Inventaire des plantes, sources de substances coumariniques. (en russe). Akad. Nauk S.S.S.R., « Nauka » Ed., Leningrad, 200 p.

12. Carbonnier, J., et D. Molho. — *A paraître.*

13. Steck, W., M. El-Dakhakhny et S. A. Brown, 1969. — *Tetrahedron Lett.* : 4805-4808.

14. Molho D., P. Jossang, M. C. Jarreau et J. Carbonnier, 1971. — *In* : Heywood, V. H., The Biology and Chemistry of the *Umbelliferae*, Academic Press Ed., London : 337-360.

15. Carbonnier-Jarreau, M. C., J. Carbonnier, M. Fabille et D. Molho, 1978. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., no 522, Sci. phys.-chim. 19 : 3-11.

16. Molho, D., P. Jössang et J. Carbonnier, 1972. — *Bull. Soc. chim. Fr.* : 208-212.

17. Carbonnier, J., et D. Molho, 1977. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 3e sér., no 484, Sci. phys.-chim. 12 : 1-17.

18. Jössang, P., et D. Molho, 1970. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 2e sér., **42** (2) : 789-798.

Manuscrit déposé le 6 octobre 1978.

Achevé d'imprimer le 15 décembre 1978.

IMPRIMERIE NATIONALE

8 564 002 5

Recommandations aux auteurs

Les articles à publier doivent être adressés directement au Secrétariat du *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris. Ils seront accompagnés d'un résumé en une ou plusieurs langues. L'adresse du Laboratoire dans lequel le travail a été effectué figurera sur la première page, en note infrapaginale.

Le *texte* doit être dactylographié à double interligne, avec une marge suffisante, recto seulement. Pas de mots en majuscules, pas de soulignages (à l'exception des noms de genres et d'espèces soulignés d'un trait).

Il convient de numéroter les *tableaux* et de leur donner un titre ; les tableaux compliqués devront être préparés de façon à pouvoir être clichés comme une figure.

Les *références bibliographiques* apparaîtront selon les modèles suivants :

Bauchot, M.-L., J. Daget, J.-C. Hureau et Th. Monod, 1970. — Le problème des « auteurs secondaires » en taxionomie. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, 2e sér., 42 (2) : 301-304.

Tinbergen, N., 1952. — The study of instinct. Oxford, Clarendon Press, 228 p.

Les *dessins* et *cartes* doivent être faits sur bristol blanc ou calque, à l'encre de chine. Envoyer les originaux. Les *photographies* seront le plus nettes possible, sur papier brillant, et normalement contrastées. L'emplacement des figures sera indiqué dans la marge et les légendes seront regroupées à la fin du texte, sur un feuillet séparé.

Un auteur ne pourra publier plus de 100 pages imprimées par an dans le *Bulletin*, en une ou plusieurs fois.

Une seule épreuve sera envoyée à l'auteur qui devra la retourner dans les quatre jours au Secrétariat, avec son manuscrit. Les « corrections d'auteurs » (modifications ou additions de texte) trop nombreuses, et non justifiées par une information de dernière heure, pourront être facturées aux auteurs.

Ceux-ci recevront gratuitement 50 tirés à part de leurs articles.
